



# Expérimentation, chez le mouton à laine, de l'innocuité et de l'efficacité d'un poxvirus modifié, isolé d'un mouton mauritanien atteint de clavelée nodulaire

par Y. GILBERT, P. SAURAT, J. CHANTAL (1), G. CHAMOISEAU (2)

(1) Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex.

(2) Centre National d'Élevage et de Recherches Vétérinaires (C.N.E.R.V.) B.P. 167, Nouakchott, République Islamique de Mauritanie.

## RÉSUMÉ

GILBERT (Y.), SAURAT (P.), CHANTAL (J.), CHAMOISEAU (G.). — Expérimentation chez le mouton à laine, de l'innocuité et l'efficacité d'un poxvirus modifié, isolé d'un mouton mauritanien atteint de clavelée nodulaire. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, 38 (1) : 22-27.

Un poxvirus, isolé d'une lésion pulmonaire d'un mouton mauritanien atteint de clavelée, a été modifié dans le but d'obtenir un mutant thermosensible susceptible d'être utilisable comme vaccin. Une expérimentation a été conduite sur des moutons à laine européens pour apprécier le degré de modification de la souche traitée et son pouvoir immunogène. Au niveau d'atténuation où elle a été menée, la souche confère, dans certaines conditions, une immunité certaine. Mais elle garde un pouvoir pathogène résiduel qui dissuade de l'utiliser telle quelle comme vaccin sur le terrain. Des passages supplémentaires sont nécessaires pour en pousser l'atténuation.

**Mots clés :** Poxvirus - Clavelée - Mutant thermosensible - Immunité - Mouton - Mauritanie.

## SUMMARY

GILBERT (Y.), SAURAT (P.), CHANTAL (J.), CHAMOISEAU (G.). — Experimentation, in the wool producing sheep, on innocuity and efficiency of a pox virus isolated from a mauritanian sheep affected with nodular sheep pox after attempted modification. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, 38 (1) : 22-27.

A pox virus strain, isolated from a pulmonary nodule of a mauritanian sheep affected with sheep pox has been modified to obtain a thermosensitive mutant to be used as a vaccine. An experimentation has been conducted on european wool producing sheep with the object of the studying the stage of modification of the strain and its immunogenic properties.

At the acquired level of attenuation, the strain afford in determinate conditions a noticeable immunity, but it still remains a residual pathogenic power which forbids its use as a vaccine in the field. Additional passages are required to obtain a better attenuation.

**Key words :** Pox virus - sheep pox - Thermosensitive mutant - Immunity - Sheep - Mauritania.

## INTRODUCTION

Depuis 1975, une souche de virus de la clavelée isolée de lésions pulmonaires d'un mouton mauritanien a été entretenue au Laboratoire de la chaire des maladies contagieuses de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse, et a subi un certain nombre de traitements visant à en faire un mutant thermosensible (2), au pouvoir

pathogène réduit et au pouvoir immunogène suffisant, susceptible d'être utilisable comme virus-vaccin chez le mouton mauritanien (2).

Le détail des traitements subis par la souche fera l'objet d'une communication ultérieure.

L'expérimentation dont le compte rendu est rapporté a été possible grâce à une subvention spéciale du ministère du Développement Rural de la République Islamique de Mauritanie (7).

Elle a eu pour but de déterminer le pouvoir pathogène résiduel de la souche à son degré actuel de modification et d'apprécier son pouvoir immunogène.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

### 2.1. Virus

#### 2.1.1. Souche pathogène

Il s'agit de la souche obtenue à partir de lésions pulmonaires d'un mouton mauritanien atteint de clavelée nodulaire. Cette souche, inoculée par voie intradermique, à un mouton à Toulouse, a provoqué une papule inflammatoire étendue à partir de laquelle le virus a pu être isolé sur cellules de rein du fœtus ovin.

Ce virus a subi 4 passages sur cellules de rein d'agneau ; un stock, constitué par le milieu et les cellules infectées broyées, a été conservé en ampoules scellées à  $-70^{\circ}\text{C}$ . Ce virus titre alors 105, 7 D. I. 50 pour le mouton européen par ml de virus (4-5).

#### 2.1.2. Souche vaccinale

Il s'agit de la souche modifiée cultivée sur cellules de rein de fœtus ovin, ayant subi un certain nombre de passages à basse température (actuellement  $28^{\circ}\text{C}$ ). Son titre sur cellules est d'environ 104 D.I. 50/ml de culture infectée. Ses caractéristiques feront par ailleurs l'objet d'un exposé détaillé.

### 2.2 Moutons

Douze agneaux de 4 à 5 mois environ, pesant chacun 30 kg environ, en provenance de la région de Lannemezan.

Les moutons inoculés sont entretenus en local étanche du bloc d'isolement.

### 2.3. Méthode

#### 2.3.1. Contamination vaccinale

L'innocuité de la souche doit être recherchée, d'une part après inoculation intradermique, l'utilisation éventuelle de ce virus comme vaccin pouvant s'effectuer par cette voie, et d'autre part, après contamination par voie aérienne, voie probable de l'infection naturelle.

Les moutons sont répartis en 4 lots :

1) Quatre moutons, n° 51, 52, 53, 54, reçoivent le virus-vaccin par voie intradermique à la dose de 0,2 ml, dans la peau des faces latérales du tronc préalablement tondue. Chaque dilution est inoculée en 4 points. Les dilutions injectées étant de  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ .

2) Deux moutons, n° 55, 56, sont laissés au contact des précédents. Les lots 1 et 2 sont groupés en un seul local et maintenus en étroite promiscuité.

3) Quatre moutons, n° 57, 58, 59, 60, reçoivent un aérosol de virus obtenu à l'aide d'un générateur Jouan. L'aérosol est conduit par un tuyau terminé par un entonnoir coiffant l'extrémité céphalique du mouton. L'application dure 10 minutes pendant lesquelles sont nébulisés 2 à 3 ml de virus.

4) Deux moutons, n° 61 et 62 sont conservés à l'écart pour servir de témoins lors de l'inoculation d'épreuve.

Tous les moutons subissent une prise de sang, en vue de l'obtention de sérum, le jour de l'inoculation vaccinale. Des prises de sang sont effectuées 14 à 36 jours après l'inoculation vaccinale.

#### 2.3.2. Epreuve virulente

Elle s'effectue 36 jours après la contamination vaccinale. Les moutons sont alors redistribués en 2 lots.

Premier lot : Epreuve par voie intradermique.

Les moutons n° 53, 54 (lot 1), 60 (lot 3) reçoivent 0,2 ml de virus d'épreuve non dilué par voie intradermique. Les moutons n° 56 (lot 2) et 62 (lot 4) sont tondus selon deux bandes latérales, de part et d'autre du corps, et reçoivent le virus d'épreuve aux dilutions  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , à la dose de 0,2 ml (2 injections pour chaque dilution).

Second lot :

Les moutons n° 51, 52, 55, 58, 59, 61 sont soumis à l'exposition d'un aérosol de virus pathogène dans les mêmes conditions que pour l'aérosol vaccinal.

Chacun des lots est maintenu en local étanche.

#### 2.3.3. Recherches sérologiques

Les moutons font l'objet d'un prélèvement de sang pour obtention de sérum :

— avant inoculation ;

- 18 jours après contamination vaccinale ;
- 36 jours après contamination vaccinale ;
- 22 jours après contamination d'épreuve.

Les recherches sérologiques s'effectuent par mise en évidence des anticorps au moyen des techniques de séroneutralisation et immunofluorescence (1). Il n'a pas été fait de titrage des anticorps. Seule, une recherche qualitative a été effectuée.

#### 2.3.4. Examen nécropsique

Vingt jours après l'épreuve virulente, les moutons sont sacrifiés et soumis à un examen nécropsique pour recherche des lésions internes et des lésions cutanées.

## RÉSULTATS

### 3.1. Suites des infections par la souche modifiée

#### 3.1.1. Cliniques

- Voie intradermique :

Animaux du lot 1 : n° 51, 52, 53, 54.

Dès le premier jour, après l'inoculation intradermique, une réaction se dessine aux fortes concentrations de virus sous forme d'une tache papulaire au point d'inoculation, rouge de 1 cm de diamètre environ. Cette réaction s'affirme dès le lendemain, et s'observe alors chez certains jusqu'à la dilution  $10^{-4}$ .

Au 8<sup>e</sup> jour, une lésion circulaire érythémateuse, en relief, s'observe à chaque point d'inoculation. Son diamètre varie de 3 cm aux concentrations les plus élevées à 1 cm à la dilution  $10^{-3}$ , pour se réduire au volume d'un grain de blé à la dilution  $10^{-4}$ . Vers le 12<sup>e</sup> jour, la laine se détache au niveau des lésions dont la surface suinte.

Au 14<sup>e</sup> jour, la surface commence à sécher, et dans les jours suivants se forme une escarre sèche. Cette croûte va persister pendant plusieurs semaines, au lieu d'injection des plus fortes concentrations.

Le virus utilisé provoque des lésions à tous les points d'inoculation de la dilution  $10^{-3}$  et à la moitié des points à la dilution  $10^{-4}$ . On constate donc, à la suite de l'inoculation intradermique de virus à forte concentration, l'évolution d'une lésion papuleuse, sèche puis suintante, se desséchant rapidement pour former une escarre noirâtre persistant pendant plusieurs semaines.

- Témoins au contact des inoculés intradermiques

Ces sujets n'ont présenté aucun symptôme durant toute l'observation jusqu'à leur abattage.

- Aérosol

Aucun trouble n'a été observé chez ces moutons durant toute la période d'observation jusqu'à leur sacrifice.

#### 3.1.2. Réactions sérologiques après administration de la souche modifiée

TABLEAU N° I

		I.F.	S.N.	I.F.	S.N.
51	I.D.	+	+	+	+
52	"	+	+	+	+
53	"	+	+	+	+
54	"	+	+	+	+
55	contact	-	-	+	+
56	"	-	-	+	+
57	aérosol	+	+	+	+
58	"	-	-	-	-
59	"	+	+	+	+
60	"	+	+	+	+
Inoculation		18 j après infection		35 j après infection	

### 3.2. Suites de l'infection par la souche d'épreuve

#### 3.2.1. Clinique

- Voie intradermique

Cette épreuve a été pratiquée sur :

- deux moutons précédemment infectés par voie intradermique ;
- un « contact » de ceux-ci ;
- deux moutons précédemment infectés par aérosol ;
- un témoin neuf.

Les animaux des groupes a, b, c, n'ont présenté au point d'inoculation qu'une réaction érythémateuse fugace, visible dès le lendemain de l'inoculation et qui a disparu dans les 48 heures suivantes.

Le témoin, animal neuf, a reçu différentes inoculations à concentrations décroissantes  $10^0$  à  $10^{-5}$ .

L'apparition et l'évolution des lésions ont été comparables à celles de la souche modifiée. Cependant, la taille des lésions était nettement supérieure, puisque à la plus forte concentration, le diamètre dépassait 5 cm et l'épaisseur du relief était sensiblement augmentée.

En résumé, la lésion érythémateuse et papuleuse est apparue en 3 jours. La surface en est devenue suintante en 7 jours, puis s'est escarifiée après 10 jours environ. Les lésions étaient encore en évolution au moment du sacrifice, soit 20 jours après inoculation, sous forme d'escarres noirâtres, circulaires, couvrant une zone ulcérée, suintante, de diamètre variable selon la dilution de virus inoculée.

#### • Aérosol

Aucun symptôme clinique n'a pu être observé sur ces sujets. En particulier, le témoin n'a présenté aucun signe pulmonaire ni surtout de « sortie » sous forme de lésions cutanées.

### 3.2.2. Sérologiques

Tous les moutons ayant reçu la souche modifiée et ceux qui ont été en contact étroit avec eux possédaient des anticorps contre la clavelée au moment de l'épreuve. Des deux moutons neufs, celui inoculé par voie intradermique présentait des anticorps dans son sérum au 20<sup>e</sup> jour après contamination. Le second, infecté par aérosol, en était dépourvu.

### 3.2.3. Nécropsiques

#### • Lésions cutanées

Lésions résiduelles des inoculations vaccinales dermiques (n° 51, 52, 53, 54) :

Il s'agit de lésions en voie de cicatrisation presque complète. Il demeure une zone encore congestive de tissu cicatriciel dépourvue de laine, d'aspect rosé, prolifératif :

— Lésions d'inoculation intradermique d'épreuve

a) Moutons immuns (n° 53, 54, 56, 57, 58). Seule demeure au point d'inoculation, une légère infiltration séreuse visible à la section, mais indiscernable au toucher.

b) Mouton témoin réceptif (n° 62) : on observe une lésion typique au point d'inoculation aux différentes dilutions de virus. La lésion est couverte d'une zone escariforme noirâtre, de 3 mm d'épaisseur, sous laquelle on observe une surface suintante, saignant à l'arrachement, infiltrée et inflammatoire. Le diamètre de la lésion varie de 2 à 5 cm selon la concentration de l'inoculum en virus.

#### • Lésions pulmonaires

— Inoculation vaccinale dermique — épreuve dermique (n° 53, 54) : aucune lésion pulmonaire n'est décelable.

— Inoculation vaccinale dermique — épreuve par aérosol (n° 51, 52) : aucune lésion pulmonaire n'est décelable.

— Contact des moutons inoculés par voie dermique.

a) Epreuve dermique (n° 56) : sont présentes à la surface du poumon, 3 lésions nodulaires d'un diamètre de 3 à 5 mm, denses, fibreuses, organisées, de couleur blanc jaunâtre.

b) Epreuve aérosol (n° 55) : on observe, à la surface du poumon, une grosse lésion ancienne, d'un diamètre de 1 cm environ, et 4 petites lésions de la taille d'un grain de blé.

— Inoculation vaccinale par aérosol

a) Epreuve dermique (n° 57 et 60) : le mouton n° 57 montre, au niveau du poumon, 4 lésions d'aspect ancien, probablement dues à l'infection par la souche modifiée, d'un diamètre de 1 cm environ ; des foyers sont localisés, organisés ; le reste du poumon est parfaitement normal. Chez le mouton n° 60, 3 lésions analogues sont présentes, de diamètre respectif 1,5-0,5-0,2 cm environ.

b) Epreuve par aérosol : le mouton n° 58 présente, au niveau du poumon, 1 lésion de type ancien, d'un diamètre de 2 cm environ. A la section, le parenchyme pulmonaire montre une pneumonie étendue, formée par juxtaposition de foyers miliaires congestifs. Cet aspect est analogue à celui du poumon du mouton n° 61, infecté par aérosol avec la souche d'épreuve. Le mouton n° 59 ne présente aucune lésion au niveau du poumon.

— Epreuve par voie dermique : aucune lésion pulmonaire n'est décelable.

— Epreuve par aérosol : On observe des lésions étendues de pneumonie rouge, d'aspect miliaire. A la section, des zones étendues, occupant environ en volume la moitié de l'organe, se présentent sous forme de grains juxtaposés, denses, rouges. Ces zones sont particulièrement importantes au niveau des lobes apicaux presque totalement affectés, mais laissant fonctionnelle une partie importante de la masse pulmonaire.

## 4. COMMENTAIRES

• L'inoculation intradermique de la souche modifiée provoque, lorsque la dose inoculée excède 100 D.I. 50, l'apparition et l'évolution de lésions cutanées importantes, cicatrisant lentement après formation d'une escarre.

Il n'y a pas d'apparition de lésions secondaires, de généralisation, ni d'atteinte pulmonaire.

Ce mode d'inoculation provoque l'apparition d'une immunité vis-à-vis de la souche d'épreuve inoculée, soit par voie intradermique (il n'y a pas formation de lésion au lieu d'inoculation de  $10^5$  D.I. 50), soit par aérosol (les poumons ne présentent aucune altération).

Les animaux inoculés par voie intradermique, à l'aide de la souche modifiée, sont susceptibles de transmettre l'infection à des animaux non vaccinés tenus à leur contact. Cette infection s'effectue par voie aérienne, et provoque chez les animaux neufs l'apparition de lésions localisées, visibles sous forme de foyers indurés.

Cette infection provoque chez les témoins une immunité attestée lors d'épreuve intradermique, par l'absence de réaction après inoculation de  $10^5$  D.I. 50, soit par l'absence de pneumonie après infection par aérosol.

• L'administration par aérosol de la souche modifiée provoque l'apparition de lésions localisées au niveau du poumon, visibles 8 semaines après l'infection sous forme de foyers localisés, de faible volume, en voie de régression. Il n'y a pas apparition de lésions cutanées caractéristiques de la clavelée classique.

Cette infection confère l'immunité vis-à-vis d'une inoculation intradermique de  $10^5$  D.I. 50 de la souche d'épreuve chez les 2 moutons de ce lot. En revanche, l'un des 2 moutons éprouvés par aérosol, bien que porteur de lésions résiduelles apparemment dues à l'administration aérienne de la souche modifiée, présente des lésions de pneumonie évolutive, comparables à celles observées chez le mouton témoin éprouvé sans vaccination préalable. L'immunité locale au niveau du poumon ne serait donc pas d'une solidité aussi grande qu'il est souhaitable.

• L'administration par aérosol de la souche d'épreuve provoque certes une infection pul-

TABLEAU N°II - Tableau synoptique de l'expérimentation et de ses résultats

	Inoculation souche modifiée			Epreuve			Nécropsie		Conclusions
	Voie	Sérologie		Réaction clinique	Voie	Réaction clinique	Sérol.	Lésions pulmonaires	
		j +18	j +35						
51	I.D.	+	+	oui	A	non	+	0 lésion	Immunisés contre l'épreuve. Mais réactions locales exagérées à la souche modifiée.
52	I.D.	+	+	oui	A	non	+	idem	
53	I.D.	+	+	oui	I.D.	non	+	idem	
54	I.D.	+	+	oui	I.D.	non	+	idem	
55	T.C. I.D.	0	+	non	A	non	+	1 lésion anc. Ø 1cm. 4 lésions anc. grains blé	Contaminés au contact des inoculés en I.D.
56	T.C. I.D.	0	+	non	I.D.	non	+	3 lésions anc. Ø 0,3 à 0,5 cm	Résistent à l'épreuve
57	A	+	+	non	I.D.	non	+	4 lésions anc. Ø	Lésion pulmonaire locale due à souche vaccin. Résiste à l'épreuve.
58	A	0	+	non	A	non	+	1 lésion anc. Ø 2cm. Pneumonie miliaire récente étendue.	Conver. sérol. tardive après souche modifiée. Pas d'immunité à l'épreuve.
59	A	+	+	non	A	non	+	0 lésion visible.	Immunisé sans dommage par souche vaccinale par voie pulmonaire.
60	A	+	+	non	I.D.	non	+	3 lésions anc. Ø 1,5 ; 0,5 ; 0,2cm.	Lésion pulm. locale due à souche vaccin. Résiste à l'épreuve.
61	-	-	-	-	A	non	0	Pneumonie étendue en micro-foyers juxtaposés.	
62	-	-	-	-	I.D.	oui	+	0 lésion visible	

Ø = diamètre.



monaire étendue, bien que cliniquement muette, sans retentissement sur l'état général et le comportement. Mais la 2<sup>e</sup> phase, classiquement décrite dans l'évolution de la clavelée, c'est-à-dire l'apparition des lésions cutanées, a fait complètement défaut. Il faut d'ailleurs reconnaître que, seul, un animal était réceptif à l'inoculation d'épreuve.

## 5. CONCLUSIONS

La souche en voie de modification, à son 30<sup>e</sup> passage environ sur cellules à basse température, présente encore des caractéristiques indésirables et ne saurait, sans poursuite de la modification, être déjà utilisée comme vaccin.

En effet, elle provoque après inoculation intradermique, l'apparition de lésions trop importantes, bien que sans tendance à la généralisation, tout au moins dans la catégorie d'animaux utilisés. Ces lésions sont susceptibles de transmettre une infection par voie aérienne à des animaux non vaccinés au contact.

Si, dans l'expérience ici rapportée, les consé-

quences en paraissent acceptables, l'infection étant, semble-t-il, localisée à des foyers de pneumonie qui s'organisent, il pourrait en être autrement si les animaux en contact étaient des nouveau-nés dont la réceptivité et la sensibilité à la maladie sont beaucoup plus importantes. Il conviendrait donc, avant tout, de rechercher sur des agneaux à la naissance l'effet pathogène de la souche modifiée administrée par aérosol.

Dans cette expérience, la souche modifiée n'a donc provoqué, quel que soit le mode d'administration, dermique ou pulmonaire, que des affections curables pour les animaux utilisés, bien que ces réactions soient difficilement acceptables pour un vaccin (3, 6). La souche d'épreuve a révélé un pouvoir pathogène légèrement plus important par voie dermique, nettement plus accentué par aérosol.

En l'état actuel de sa modification, la souche ne peut servir de vaccin. La poursuite des passages entrepris doit permettre une atténuation de son pouvoir pathogène au niveau du poumon, et l'intérêt de la présente expérience aura été de définir des critères à rechercher pour des expériences futures.

## RESUMEN

GILBERT (Y.), SAURAT (P.), CHANTAL (J.), CHAMOISEAU (G.). — Experimentación, en el ganado lanar, de la inocuidad y de la eficacia de un poxvirus modificado, aislado de un carnero mauritano padecido viruela ovina nodular. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1985, **38** (1) : 22-27.

Se modificó un poxvirus, aislado de una lesión pulmonar de un carnero mauritano padecido viruela ovina, para obtener un mutante termosensible pudiendo utilizarse como vacuna. Se efectuó una experimentación en ganado

lanar europeo para determinar el grado de modificación de la cepa tratada y su poder inmunogénico. Al nivel de atenuación obtenido, la cepa otorga una inmunidad segura en ciertas condiciones. Pero conserva un poder patógeno residual que impide utilizarla tal cual como vacuna sobre terreno. La mejoría de la atenuación necesita pasajes suplementarios.

**Palabras claves :** Poxvirus - Viruela ovina - Mutante termosensible - Inmunidad - Ganado lanar - Mauritania.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AL-HILLI (J. N. A.), AL-MAHMOUD (J. M.). Histologic and immunofluorescent studies of sheep testes cells infected with goat pox viruses *in* : Les maladies infectieuses du mouton et de la chèvre. V<sup>e</sup> Symposium international de l'Association Mondiale des Vétérinaires Microbiologistes, Immunologistes et Spécialistes des Maladies infectieuses. Tunis, 20-22 novembre 1978. p. 38.
2. KELLER (F.), DRILLIEN (R.), KIRN (A.). Thermosensibilité du développement des poxvirus et virulence. Utilisation des souches thermosensibles comme vaccin *in* : Rencontres Biologiques, Paris, Varia, 1978. p. 121-126.
3. MENASSE (I.), SEIMENIS (A.), SKYRIANOS (G.), STOFOROS (E.), SARATSOTIS (A.). Sheep pox in Greece. Severe post vaccinal incidents following vaccination in a large scale *in* : Les maladies infectieuses du mouton et de la chèvre. V<sup>e</sup> Symposium international de l'Association Mondiale des Vétérinaires Microbiologistes, Immunologistes et Spécialistes des Maladies Infectieuses. Tunis, 20-22 novembre 1978. p. 42.
4. PRECAUSTA (P.), KATO (F.), VELLUT (L.). Adaptation d'une souche du virus de la clavelée à la culture cellulaire et utilisation dans la prophylaxie médicale de la clavelée *in* : Les maladies infectieuses du mouton et de la chèvre. V<sup>e</sup> Symposium international de l'Association Mondiale des Vétérinaires Microbiologistes, Immunologistes et Spécialistes des Maladies infectieuses. Tunis, 20-22 novembre 1978. p. 34.
5. RAMISSE (J.), ASSO (J.), HASSANI (A.), ANANE (O.) et JEMLI (J.). Culture du virus claveléux sur cellules : applications à la vaccination et au contrôle de l'immunité. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1978, **31** (1) : 11-19.
6. RAMYAR (H.), HESSANI (M.), GRABOUSSI (B.). Observations on the use of modified tissue culture vaccine against sheep-pox. *Bull. O.I.E.*, 1974, **81** (9-10) : 881-887.
7. Rapport d'Activités du Centre National d'Elevage et de Recherches Vétérinaires. Nouakchott, Mauritanie. 1981.